مجلة جامعة النهرين العلوم المجلد ١٧ العدد(١) آذار، ٢٠١٤ ص ٣٩-44

# عزل وتشخيص الفطريات المسببة لذبول بادرات نبات البلنكو *Lallemantia royleana*

كونر عبد الوهاب شاكر
قسم النبات والبيئة، مركز بحوث ومتحف التاريخ الطبيعي، جامعة بغداد، العراق.

**الخلاصة**

شملت الدراسة عزل وتشخيص المسبب الفطري لمرض موت بادرات نبات البلنكو *Lallemantia royleana* (Benth. in Walla) في المشاتل العائدة/ الشعبة النباتات الطبية/ الشركة العامة للمحاصيل الصناعية/ وزارة الزراعة، وظهر الفطران *Rhizoctonia solani* Kühn و *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. بانهما المسببان لتعفن البذور وموت البادرات، وكانت النسبة المئوية للاصابة بتعفن البذور وموت البادرات ٤٤,٤، ٢٢,٢% على التوالي في كافة الالواح. وأظهرت نتائج اختبار القدرة الامراضية لكل من الفطرين *R. solani* و *F. solani* بان النسبة المئوية لتعفن البذوركانت ٦٠، ١٦% وموت البادرات ٢٤، ٣٥,٣ % على التوالي. اظهر اختبار كفاءة الفطر الاحيائي *Trichoderma harzianum* في تثبيط نمو الفطرين الممرضين *F. solani* و *R. solani* في الوسط الزرعي قوة تضاد عالية مع الفطرين الممرضين, حيث بلغ ٢ و١,٦ على التوالي. ويعد هذا التسجيل الاول للمرض في العراق.

**المقدمة**

نبات البلنكو *Lallemantia royleana* (Benth. in Walla.). نبات عشبي حولي يرجع إلى العائلة Lamiaceae والاسم العام للنبات هو بلنكو Balangu، يزرع النبات في الاجواء المختلفة من المعتدلة الى الاستوائية، وله خمسة أنواع منتشرة في أفغانستان، الصين، الهند، إيران، كازاخستان، قيرغزستان، باكستان، طاجاكستان، تركمانستان، أوزباكستان وجنوب غرب آسيا واوربا. بذوره تعتبر من المصادر الجيدة للالياف والزيوت والبروتين وهي من المغذيات المفيدة لصحة الانسان، ولها خصائص فيزياوية وكيماوية كامتصاصها للماء بقوة تستعمل لعمل الشراب عديم اللون ولزج كما وتدخل في انتاج المواد المستحلبة والغروية كذلك تدخل في الصناعات الغذائية مثل المرطبات والمثلجات وتحوي البذور على ٧,٨٢% نسبة رطوبة و ٢٥,٦٠% نسبة البروتين و ١٨,٢٧% دهون خام و ١,٢٩% ألياف خام، يستخلص من بذور نبات البلنكو مواد هلامية ذات لزوجة عالية وقابلية التصاق عالية ذو خواص جيدة لصناعة الادوية لكون هذا الغلاف طبيعي وأمن وذات خواص فيزيوكيميائية وصيدلانية جيدة (١٦،١٥،١٣،٨،٣). يزرع في العراق من قبل وزارة الزراعة/ شعبة النباتات الطبية والتوابل العشبية وذلك للأغراض البحثية ونظراً لأهمية هذا النبات ونتيجة ظهور أصابات (ذبول وموت البادرات) ارتاينا القيام بدراسة لتشخيص ومكافحة أهم المسببات الفطرية المحدثة للمرض.

**المواد وطرائق العمل**

١- **تقدير نسبة الاصابة وشدة الاصابة:** لاجل تقدير نسبة الاصابة تم القيام بالمسح الحقلي لمشاتل الشركة العامة للمحاصيل الصناعية/ وزارة الزراعة العائدة لشعبة النباتات الطبية والتوابل العشبية وفحصت النباتات المصابة في المشاتل مرتين بداية ظهور الشتلات ونهاية الموسم حيث كان عدد الالواح المزروعة بنبات البلنكو ثمانية الواح وسجل عدد حالات تعفن البذور وموت البادرات في كل لوح وتم استخراج النسبة المئوية للاصابة بالاعتماد على المعادلة:

$$\text{النسبة المئوية للإصابة} = \frac{\text{عدد النباتات المصابة}}{\text{العدد الكلي للنباتات في كل لوح}} \times ١٠٠$$

وسجلت النسبة المئوية لشدة الاصابة بالمرض للشتلات المزروعة في الالواح الثمانية والحاوية على (١٨) شتلة في كل لوح وفقاً للدليل المرضي الذي ذكره (٢) والمكون من خمس درجات كالآتي:

٠. لا توجد اصابة.

١. ظهور اصفرار جزئي على الاوراق.

٢. ظهور اصفرار كلي على الاوراق.
٣. ظهور التقزم والضعف على النبات.
٤. عدم حصول الانبات او موت النبات كلياً. وحسبت النسبة المئوية لشدة الاصابة على وفق معادلة (١٧):

$$\text{الدليل المرضي} = \frac{\text{عدد النباتات من درجة صفر} \times \text{صفر} + \ldots + \text{عدد النباتات من درجة} \times ٤}{\text{المجموع الكلي للنباتات من جميع الدرجات} \times \text{اعلى درجة اصابة}} \times ١٠٠$$

**٢- جمع العينات والعزل والتشخيص:** جمعت عينات من نبات البلنكو مصابة بحالة موت البادرات من مشاتل الشركة العامة للمحاصيل الصناعية/ وزارة الزراعة، أخذت العينات للعزل من منطقة التاج والجذور وضعت العينات في أكياس بولي اثيلين، جلبت الى المختبر ووضعت تحت الماء الجاري لمدة ٣٠ دقيقة وقطعت إلى اجزاء صغيرة ٠,٥ سم وعقمت بمحلول هايبوكلورات الصوديوم تركيز ١,٥% لمدة ٢ – ٣ دقيقة وغسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات وجففت بواسطة اوراق الترشيح ونقلت الى وسط الغذائي PDA المضاف اليه المضاد الحياتي Chloramphenicol وبعدد ٣ –٤ قطعة لكل طبق وتركت في الحاضنة على درجة ٢٥±١مْ لمدة ثلاثة أيام ومع متابعة ظهور النمو الفطري .نقيت العزلات الفطرية النامية بنقل جزء من طرف الخيط الفطري بواسطة أبرة معقمة و شخصت الفطريات اعتماداً على الصفات التصنيفية التي أوردها (١٤،٩،٧،٥) وحفظت على درجة حرارة ٤–٥ مْ.

**٣- اختبار القدرة الامراضية:** أستخدم النوعان R. solani , F. solani من دون الفطريات الباقية للكشف عن قدرتهما الامراضية وذلك لظهورهما بنسب تكرار اكبر مقارنة بالفطريات الاخرى، وجرت خطوات تحضير لاختبار القدرة الامراضية على النحو التالي:

١. **تحضير اللقاح الفطري:** استخدمت بذور الدخن المحلي Panicum miliaceum L. لأجل تحضير اللقاح الفطري، غسلت البذور ونقعت لمدة (٦) ساعات ثم جففت وأخذ (٥٠) غم من البذور في دورق زجاجي حجم ١٠٠ مل مع كمية من الماء ثم عقم بجهاز الاوتوكليف بدرجة ١٢١مْ وضغط ١٥ باوند/ انج٢ لمدة ساعة ولقحت البذور في الدورق بأقراص قطر ٠,٥ سم من عزلة نقية لكل من للفطرين R.solani, F.solani بشكل منفرد والذين تم تنميتهما على الوسط الغذائي PDA وحضنت على درجة حرارة ٢٥ مْ لمدة سبعة ايام مع مراعاة رج الدوارق يومياً لضمان توزيع اللقاح على جميع البذور بصورة متجانسة.

٢. **التلويث باللقاح:** أضيفت بذور الدخن الملقحة بالفطر R. solani, F. solani بمعدل ٥ غم/١٠٠٠ غم بتموس ووزعت على ثلاث اصص يحتوي كل أصيص على ٢٠٠ غم بتموس وكانت المعاملة الاولى عبارة عن أصص ملوثة ببذور الدخن الملقحة بالفطرين R. solani, F. solani وكل فطر على حدة و الثانية عبارة عن أصص ملوثة ببذور الدخن الملقحة بالفطرين R. solani, F. solani كل على حدة ومعاملة مقارنة بذور الدخن لوحدها.

زرعت الاصص ببذور نبات البلنكو (٥٠ بذرة/ اصيص) في اصص بلاستكية حاوية على البتموس المعقم والملقح بالفطرين R. solani, F. solani وسقيت بالماء وتركت في الحقل وكان عدد المكررات ثلاث لكل معاملة لحين ظهور اعراض الاصابة بموت البادرات مع اعادة العزل من البادرات المصابة للتأكد من الفطر الممرض. تم حساب النسبة المئوية للإنبات والاصابة بموت البادرات وفق المعادلات التالية:

$$\text{النسبة المئوية للاصابة بموت البادرات} = \frac{\text{عدد البادرات الميتة} \times ١٠٠}{\text{عدد البادرات الكلية}}$$

$$\text{النسبة المئوية لانبات البذور} = \frac{\text{عدد البادرات الظاهرة}}{\text{عدد البذور الكلية}} \times ١٠٠$$

**٤ –اختبار كفاءة الفطر الاحيائي** Trichoderma harzianum **في تثبيط نمو الفطر الممرض** R. solani and F. solani **في الوسط الزرعي.**

أجريت التجربة لدراسة القدرة التضادية بين الفطريات المعزولة من جذور نبات البلنكو والفطريات الممرضة R. solani و F. solani مع فطر المقاومة الإحيائية T. harzianum (تم الحصول على عزلة التحدي من دائرة البحوث الزراعية، وزارة العلوم والتكنولوجيا) وباستخدام تقنية

الزرع المزدوج(Dual culture Technique (DCT بين تلك الفطريات على الوسط الغذائي PDA قطره ٧ سم وقسم الى قسمين متساويين من القطر الوسطي، لقح مركز النصف الأول بقرص ٠,٥ سم أخذ من مزرعة نقية للفطرين R. solani و F. solani كل على حدة بواسطة ثاقبة الفلين المعقم ولقح مركز النصف الثاني للطبق بقرص ٠,٥ سم أخذ من حافة مزرعة نقية للفطر المضاد T. harzianum. تم تقيم ظاهرة التضاد حسب مقياس (٦) المكون من خمس درجات هي:

١- الفطر المضاد يغطي الطبق بكامله.
٢- الفطر المضاد يغطي ¾ من مساحة الطبق.
٣- الفطر المضاد والفطر الممرض يغطي لكل منهما نصف مساحة الطبق.
٤- الفطر الممرض يغطي ¾ من مساحة الطبق.
٥- الفطر الممرض يغطي الطبق بكامله. ويعد الفطر مضادا حيويا اذا كان المقياس (٢) فاقل.

**النتائج والمناقشة**

١. **تقدير نسبة الاصابة وشدة الاصابة:** شوهدت الاصابة على البادرات والمتمثلة بحالات تعفن البذور شكل (١) نتيجة عدم انبات البادرات في الجور وكذلك حالات موت ما بعد الانبات تمثلت باعراض التقزم وضعف نمو النبات واصفراره شكل (٢) وتلون منطقة التاج الملامسة لسطح التربة باللون البني الداكن او الاسود للنسيج الداخلي والوعائي للساق وامتداده الى الاعلى شكل (٣ و٤) والتي لاتظهر في النباتات السليمة.أظهرت نتائج المسح الحقلي جدول (١) الذي اجري على الالواح المزروعة بالنبات خلال موسم الشتوي للزراعة الى وجود نسبة اصابة واضحة بتعفن البذور حيث كان معدل الاصابة ٤٤,٤% اعلى نسبة في اللوح (٥) وكان اقل معدل اصابة صفر% في اللوح (١)، في حين كانت نسبة موت البادرات صفر% في اللوح (٤) واعلى معدل اصابة ٢٢,٢% في اللوح (٣). أما شدة الاصابة وقد تراوحت ما بين (٥,٥-٤٤,٤%) وازدادات طرديا مع زيادة النسبة المئوية لتعفن البذور وموت لبادرات حيث تتناسب تناسباً عكسياً مع سرعة نمو البادرة وطردياً مع سرعة نمو الفطر (١٠). ويعزى السبب الى اختلاف كمية اللقاح الفطري و نسبة تواجد الفطريات الممرضة و توفر الظروف الملائمة وعدم اتباع نظام الدورات الزراعية وظهور المخلفات والبقايا النباتية المصابة و العوائل الثانوية كالادغال وجميع العوامل هذه زيادتها ونقصانها تتحكم في نسبة الاصابة والتي تساعد على زيادة كمية اللقاح للمسبب الممرض.

**شكل (١) ظاهرة موت البادرات والجور الخالية من البادرات لتعفن البذور وموتها في الالواح المزروعة بنبات البلنكو.**

**شكل (٢) الإعراض المرضية من التقزم والاصفرار على نباتات البلنكو المصابة مقارنة مع النباتات السليمة في المراحل الاولى من النمو في الحقل.**

**جدول (١)**
**النسب المئوية للاصابة بتعفن البذور وموت البادرات وشدة الاصابة لنبات البلنكو في الحقول التابعة للشركة العامة للمحاصيل الصناعية.**

| الألواح المزروعة | % تعفن البذور Pre-emergence | % موت البادرات Post-emergence | % شدة الاصابة |
|---|---|---|---|
| ١ | ٠ | ١١,١ | ٥,٥ |
| ٢ | ٥,٥ | ٥,٥ | ٥,٥ |
| ٣ | ٢٧,٧ | ٢٢,٢ | ١٦,٦ |
| ٤ | ١٦,٦ | ٠ | ٢٧,٧ |
| ٥ | ٤٤,٤ | ٥,٥ | ٤٤,٤ |
| ٦ | ٣٨,٨ | ٥,٥ | ٤٤,٤ |

**شكل (٣) ظاهرة تعفن واسوداد الساق والجذورمن الخارج وفي منطقة اللب لنبات البلنكو.**

**شكل (٤) الإعراض المرضية الظاهرة على الافرع المصابة من نبات البلنكو مقارنة بالافرع السليمة.**

٢. **العزل والتشخيص:** تشيرالنتائج جدول (٢) إلى عزل ٩ اجناس من الفطريات من جذور وقواعد سيقان نباتات البلنكو التي ظهرت عليها أعراض الإصابة بالمرض، وظهر أن الفطر Rhizoctonia solani أكثرها تكراراً وقد وجد في جميع العينات بنسبة تراوحت ٩١,٦% يليه F. solani وبنسبة ٥٠% ثم الفطر Ulocladium atrum و Cheatomium sp. بنسبة ١٦,٦% والفطريات الاخرى بنسبة ٨,٣ % وهذا يتفق مع ما سجله (٢) من ان هذين الجنسين مستوطنين في التربة وتهاجم جذور عوائل نباتية مختلفة و ان الزراعة المتكررة للمحصول سنوياً وبشكل مستمر في هذه المناطق وملائمة الظروف البيئية يؤدى إلى تراكم اللقاح الفطري في التربة.

**جدول (٢)**

**النسبة المئوية لتكرار الفطريات المعزولة من جذور وقواعد سيقان نبات البلنكو.**

| الفطريـــــات | % النسبة المئوية لتكرار الفطريات في العينات |
|---|---|
| *Rhizoctonia solani* | 91.66 |
| *Fusarium solani* | 50.00 |
| *Ulocladium atrum* | 16.66 |
| *Cheatomium sp* | 16.66 |
| *Cladosporium herbarum* | 08.33 |
| *Alternaria alternata* | 08.33 |
| *Aspergillus flavus* | 08.33 |
| *Aspergillus niger* | 08.33 |
| *Torula sp* | 08.33 |

٣. **اختبار القدرة الامراضية:** أظهرت النتائج الى أن النسبة المئوية لموت البادرات بلغت ٢ و٣٥,٣% للفطرين R.solani و F.solani على التوالي مقارنة بمعاملة المقارنة وهي صفر% في حين ان نسبة تعفن البذور كانت ٦٠ و ١٨% للفطرين R. solani و F. solani على التوالي وصفر% لمعاملة المقارنة جدول (٣)، مما نستنتج ان الفطرين لهما الدور معا في التاثير لاحداث الاصابة بالمرض.

**جدول (٣)**

**تأثير عزلات الفطر R. solani و F. solani على النسبة المئوية لإنبات بذور وموت بادرات نبات البلنكو.**

| المعاملات | % تعفن البذور | % موت البادرات |
|---|---|---|
| المعاملة الملوثة*F.solani* | 18.0 | 35.3 |
| المعاملة الملوثة*R.solani* | 60.0 | 24.0 |
| المعاملة المقارنة | 00.0 | 00.0 |

٤. **اختبار كفاءة الفطر الاحيائي** T. harzianum **في تثبيط نمو الفطرين الممرضين** R.solani and F.solani **في الوسط الزرعي:** أظهرت نتائج أختبار المقاومة الاحيائية

للفطر T. harzinanum على الفطرين المرضيين R.solani و F. solani مختبرياً بأن درجة تضاد الفطر الاحيائي ضد الفطر R. solani بلغت (٢) كما عطى الفطر T. harzianum تضاداً مع الفطر F. solani بلغت (١,٦) وهذا يتفق مع (٦)، و يمكن استخدامه حقليا للقضاء على الفطرين R.solani و F. solani .

للقضاء على الفطرين R.solani و F. solani المسببين للعديد من تعفنات البذور والجذور في الحقل علاوة على قدرته على البقاء في التربة في المنطقة المحيطة بالجذر (الرايزوسفير) فضلا عن قابلية تحليله للمواد العضوية المختلفة ومقاومتها للعوامل البيئية غير الملائمة واكدت بعضٌ الدراسات ان الفطر T. harzianum له قدرة عالية على السيطرة على مدى واسع من المسببات المرضية، فقد عمل الفطر على تقليل نسبة وشدة الاصابة بامراض الجذور المتسببة عن الفطر Fusarium spp. في الكثيرمن النباتات (١١). وأشار(١٢،١) إلى ان سبب كفاءة الفطر T. harzianum يعود إلى امتلاكه العديد من الآليات التي يؤثر من خلالها في الفطرالممرض كإفراز الأنزيمات أوإنتاج المضادات الحيوية فضلاً عن التنافس بين الفطرين الممرض والمقاوم الاحيائي.

**المصادر**


[١] الرفاعي، فيصل عبد الرحمن محمد. "المكافحة المتكاملة لمرض موت بادرات الطماطه *Lycopersicon esculantum* Mill. المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani* Kuhn "رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة البصرة، ٢٠٠٤.

[٢] جبر، كامل سلمان."مسح لمرض تعفن جذور وقواعد وسيقان الباقلاء وتشخيص الفطريات المسبب له ومكافحته احيائياً". مجلة العلوم الزراعية العراقية، ٣٢(٢): ١٢٧ – ١٣٢، ٢٠٠١.

[3] Alaa, A. A.; Abdulmuttalib, A. N.; and Firas. A. R.; "Application of Seed Mucilage Extracted from Lallemantia royleana as a Suspending Agent". Iraqi J. Pharm Sci, 20(1). 2011.

[4] Bahramparvar, M.; Khodaparcst, M. and Razavi, S.; "The effect of Lallemantia royleana (Balanga) seed, palmate-tuber salep and carboxymethyl cellulose gums on the physicochemical and sensory properties of typical soft ice cream. International Journal of Dairy Technology", 62 (4), Pages 571-576. 2010.

[5] Barnett, H.L.; "Illustrated genera of imperfect fungi". second edition. Buijess Publishing com. U.S.A. 1965.

[6] Bell, D. K.; Wells, H.D.; and Markham, R.C., "In vitro antagonism of Trichoderma species against six fungal plant pathogens". Phytopathology, 72: 379-382. 1982.

[7] Booth, C.; "The genus Fusarium". Common. Mycol. Inst Surry, U.K. 237 PP. 1971.

[8] Cao Shu, B.; Lallemantia L.; Chun, X.K.; [ed.],"Flora of China,Lamiaceae", 17: 133-134. 1994.

[9] Domasch, K. H.; Gams, W.; and Anderson, T.H.; "Compendium of soil Fungi". 1. Academic Press. London. 1980.

[10] Garrett, S. D.; "Soil Fungi and soil fertility". 2nd edition pergaman press. 150pp. 1981.

[11] Harman, GE.; Howell, CR.; Viterbo, A.; Chet,I.; Lorito, M .; "Review Trichoderma species- opportunistic, avirulent plant symbionts".Nat Rev Microbiol. Jan; 2(1). 43-56. 2004.

[12] Limon, M.C.; Pintor-Toro, I. A.; and Benitez, T.; "Increased Antifungal Activity of Trichoderma harzianum transformants That Overexpress a 33-kDa Chitinase". Phytopathology, 89: 254-261. 1999.

[13] Naghibi, F.; Mosaddegh, M.; Motamed, M.S.; and Ghorbani, A.; "Labiatae family in folk medicine in Iran from ethnobotany to pharmacology".Iranian J. Pharmaceutical Res. 2: 63-79. 2005.

[14] Ogoshi, A.; "Ecology and Pathogenicity of Anastomosis and intraspecific group of Rhizoctonia solani Kühn". Anna. Rev. phytopathol. 25: 125-143. 1987.

[15] Razavi, M.A.; Moghaddam, T.M.; and Amini, A.M.; "Physical mechanical properties and chemical composition of Balangu (Lallemantia royleana (Benth. in Walla.) seed". Intern. J. Food Eng. 4(5): 4. 2008.

[16] Razavi, S.M.A.; and Karazhiyan, H.; "Flow propesties and thixotrepy of selecled hydrocolloids: Experimental and modeling studies". The reference in scientific document supply.vol. 23(3). pp. 908-912. 2009.

[17] Tatagiba, J.; Maffia, L. A.; Roberto, W.B.; Acelino, C.A.; and John, C. S.; "Biological control of Botrytis cinerea in Residues and Flowers.

**Abstract**

This study included isolation and diagnosis of the fungi cause damping–off Balangu seedlings *Lallemantia royleana* (Benth. in Walla.) in nurseries belonging to the division of medicinal plants and herbal spices for Industrial Crops/ Ministry of Agriculture. The results showed that fungi *Rhizoctonia solani* Kühn and *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., were the causative agent of seed rot and seedling damping-off on Balangu plants (44.4, 22.2%), respectively. Pathogenicity study of each Fungus *R. solani* and *F. solani* showed a seed rot in apercentage of (60, 16%) and seedling damping off (24,35.3%), respectively,. *Trichoderma harzianum* appeared efficient antagonist against both pathogens *R. solani* and *F. solani* at rate (2 and 1.6), respectively.